

Dott. Prof. GIUSEPPE MARIANI

Direttore incaricato della Clinica Dermosifilopatica
della R. Università di Cagliari

BG

NUOVI CONTRIBUTI SPERIMENTALI ALLO STUDIO DEI VIRUS ERPETICO, VACCINICO, RABICO



Estratto dal *Giornale Italiano delle malattie veneree e della pelle*

FASCICOLO VI — 1923



142

MILANO

COOPERATIVA GRAFICA DEGLI OPERAI

Via Spartaco, 6

1923

Dott. Prof. GIUSEPPE MARIANI

Direttore incaricato della Clinica Dermosifilopatica
della R. Università di Cagliari

NUOVI CONTRIBUTI SPERIMENTALI ALLO STUDIO DEI VIRUS ERPETICO, VACCINICO, RABICO

□ □

Estratto dal *Giornale Italiano delle malattie veneree e della pelle*

FASCICOLO VI — 1923



MILANO

COOPERATIVA GRAFICA DEGLI OPERAI

Via Spartaco, 6

—
1923

|||||

NUOVI CONTRIBUTI SPERIMENTALI
ALLO STUDIO DEI VIRUS ERPETICO, VACCINICO, RABICO
del

Dott. Prof. Giuseppe Mariani

Direttore incaricato della Clinica Dermosifilopatica
della R. Università di Cagliari

Riprendendo gli studi già iniziati sopra l'interessante questione della natura del virus erpetico e sui rapporti eventuali da esso presentati con virus affini per proprietà fisiche e per attività patogene, mi sono proposto varii quesiti alla soluzione dei quali possono, fino ad un certo punto, contribuire, entro i limiti segnati da una giusta critica, i risultati delle esperienze praticate sugli animali e sull'uomo stesso.

Ho diviso e distinguo qui questi varii problemi nell'ordine seguente:

1. Nuovi tentativi di trapianto di materiale di erpete zonale negli animali.
2. Esperienze di controllo con materiale prelevato da dermatosi che presentano qualche affinità colle eruzioni erpetiche.
3. Osservazioni sopra alcuni caratteri fisici del virus erpetico.
4. Ricerche sulla presenza del virus erpetico nella saliva.
5. Erpete cutaneo umano sperimentale.
6. Erpete sperimentale cutaneo negli animali.
7. Erpete sperimentale genitale negli animali.
8. Tentativi di profilassi specifica contro il virus erpetico negli animali.
9. Affinità del virus erpetico animale per la cute umana.
10. Rapporti fra virus vaccinico, virus erpetico e virus rabico.

I. — Nuovi tentativi di trapianto di materiale di erpete zonale negli animali.

Abbondantissimo materiale raccolto da un'estesa tipica eruzione di erpete zonale comparso in un ragazzo nel territorio della 7^a-8^a radice cervicale, 1^a-2^a dorsale, viene inoculato sopra scarificazioni corneali di 4 conigli e introdotto sotto la dura di 2 conigli. Dei primi quattro conigli, uno solo presentò un lieve opacamento corneale

in 24^a ora, già regredito del tutto in terza giornata; l'esame microscopico del materiale corneo asportato a varie riprese fu negativo per le lesioni caratteristiche erpetiche; il passaggio ad altre cornee non riuscì; il coniglio, dopo più di un mese, è tuttora in ottime condizioni. I due conigli inoculati sottodura, dopo un breve periodo di leggera depressione, senza alcun carattere particolare, rimasero sempre in ottime condizioni ed almeno finora, dopo più di un mese, non presentano alcun fenomeno sospetto.

Senza negare la possibilità di una cheratite e di una encefalite nei conigli da virus zonale, è almeno facile dedurre da questa e da altre consimili prove che l'affinità di questo ipotetico virus per la cornea ed il sistema nervoso del coniglio è molto limitata o che il periodo di incubazione dello stesso virus in questi tessuti è molto lungo.

II. — Esperienze di controllo con materiale prelevato da dermatosi che presentano grande affinità colle eruzioni erpetiche.

a) Bambina di anni 10, affetta da classica dermatite erpetiforme; dalle manifestazioni vescicolose tipiche, di recente comparsa, — distribuite agli arti superiori, al collo, alla faccia interna della coscia, al volto, — si preleva a più riprese abbondante materiale, sia colla aspirazione del liquido tuttora limpido delle vescicole stesse, sia colla raschiatura del fondo delle medesime dopo rottura; il materiale, come tale o mescolato con glicerina al 50%, lasciato a contatto con essa per tre-dodici ore, viene inoculato complessivamente in dieci conigli, sopra scarificazioni corneali, nella camera anteriore dell'occhio, per via sottodurale, sulla cute rasata.

Il sistema nervoso e la cute non presentano reazioni di sorta. La cornea appare appena in un caso opacata diffusamente e tale manifestazione è accompagnata da discreta congiuntivite di breve durata; l'esame del materiale corneale e congiuntivale non mostra la presenza di alcuna alterazione caratteristica del tipo erpetico, l'inoculazione in serie su altra cornea di coniglio rimane senza seguito.

In seguito alla iniezione nella camera anteriore dell'occhio si ha in un caso panoftalmite purulenta acuta, non seguita da fenomeni a carico del sistema nervoso; l'esame del bulbo oculare enucleato mostra le note di un processo distruttivo acuto che invade tutti i tessuti bulbari, trasformandoli in ammassi di detriti avvolti da accumuli di cellule purulente; nessuna affinità col processo erpetico.

La stessa bambina, durante un periodo di sosta nelle eruzioni cutanee erpetiformi, presenta una forma a tipo influenzale accompagnata dalla comparsa di una eruzione vescicolosa labiale con tutti i caratteri dell'erpete febrile.

Col materiale prelevato da queste forme vescicolose si provoca sulla cornea del coniglio una tipica cheratite accompagnata da congiuntivite (controllo microscopico e passaggio in serie per via corneale in altri conigli).

Nelle vescicole della dermatite erpetiforme non è contenuto un virus che presenti particolari affinità verso i tessuti animali più costantemente e specificamente aggrediti dal virus erpetico.

Le eruzioni di erpete volgare comparse negli individui affetti da dermatite erpetiforme, forniscono un materiale che presenta gli stessi caratteri di affinità e potere patogeno per gli animali di quelli forniti dalle eruzioni erpetiche volgari in qualsiasi altro individuo.

b) Dalle manifestazioni tipiche di afta volgare comparse da due giorni sulla mucosa della faccia interna del labbro inferiore e del palato di un ragazzo, si preleva del materiale che viene conservato per 12 ore a 0°, mescolato con glicerina 50%, poi trasportato sopra scarificazioni corneali di due conigli. Uno degli animali non presenta lesioni di sorta; nell'altro si osserva, in seconda giornata, un opacamento discreto lungo la linea di scarificazione ed una leggera irritazione congiuntivale; la reazione rapidamente decresce di intensità, scompare in quinta giornata; negativa la ricerca di alterazioni necroscopiche erpetiche ed il tentativo di passaggio in altro animale.

Altra esperienza simile viene eseguita trasportando direttamente il materiale di afta volgare boccale sopra cornea e sottodura di due conigli: non si osserva alcuna alterazione locale e generale degna di nota. I conigli, sottoposti più tardi ad inoculazione corneale con materiale erpetico, reagirono vivacemente nel solito modo.

L'afta boccale non contiene un virus che presenti affinità patogena particolare per la cornea ed il sistema nervoso del coniglio, nè che conferisca immunità contro il virus erpetico.

III. — Osservazioni sopra alcuni caratteri fisici del virus erpetico.

La testa di un coniglio morto per encefalite erpetica (in 12ª giornata), spogliata della cute e parti molli, viene lasciata alla temperatura del laboratorio per quattro giorni (mese di settembre, temperatura massima 29°, temperatura minima 19°).

Aperta la scatola cranica e raccolto il cervello in notevole condizione di spappolamento (l'esame istologico dimostra profonde alterazioni cadaveriche) viene usata una parte del materiale cerebrale per inoculazione sottodurale in due conigli, previo spappola-

mento in fisiologia 1:20, macerazione, filtraggio attraverso Berkefeld N. pressione 70 cm. di mercurio; l'altra parte viene conservata in glicerina pura alla temperatura ambiente.

Dei due conigli inoculati sottodura, uno non presenta reazioni di sorta; l'altro soccombe in 7^a giornata ad una forma subacuta di encefalite con prevalenza di fenomeni paralitici.

Il materiale cerebrale di questo coniglio, conservato in glicerina per 100 giorni alla temperatura di laboratorio, viene usato (spappolato a parti uguali con fisiologica) per inoculazione sottodurale in un coniglio, e per via corneale in altro coniglio. Il primo non presenta alcun fenomeno morboso; il secondo, dopo 36 ore di incubazione, presenta caratteristica cheratite, di mediocre intensità e soccombe in 12^a giornata ad una encefalite di tipo comatoso.

Il virus erpetico resiste ai processi di decomposizione cadaverica almeno per parecchi giorni e mantiene la sua virulenza se conservato in glicerina anche alla temperatura ambiente per più di tre mesi.

IV. — Ricerche sulla presenza del virus erpetico nella saliva.

a) Una donna (sifilide recente) presenta un notevole rialzo febbrile accompagnato da una vivace eruzione erpetica sul mento e labbro inferiore dopo una iniezione endovenosa di preparato bismutico. Quando gli elementi della eruzione sono già in istato di disseccamento avanzato, staccata la crosticina di alcuni di essi, si ottiene, inoculando il materiale da essi raccolto sulla cornea di un coniglio una tipica eruzione erpetica (controllo istologico).

Ricoperto accuratamente tutto il campo occupato dalla eruzione erpetica della donna con un cerotto, dopo 24 ore, previa spennellatura di tutta la regione circostante con tintura iodio diluita in alcool, si raccoglie la saliva ed il secreto faringeo della ammalata in notevole quantità e si sottopone questo materiale a centrifugazione prolungata; il liquido leggermente opalescente soprastante si raccoglie e viene portato in parte sopra scarificazioni praticate sulla cornea di due conigli e sulla cute di quattro donne adulte (sifilitiche;) in parte iniettato intradermicamente in due bambini (eredo-luetici).

Dei due conigli, uno non presenta alterazione alcuna alla cornea inoculata, l'altro presenta, in 36^a ora, una tipica cheratocongiuntivite, di mediocre intensità, guarita in 12^a giornata (controllo istologico e passaggio in altro coniglio per via corneale).

Le quattro donne non presentarono nessuna reazione caratteristica alla sede inoculata (in una di esse si ebbe vivo eritema ed una serie di pustoline lungo una delle incisioni praticate, che però, isto-

logicamente, non mostrarono nessun dato proprio delle lesioni erpetiche); nei due bambini si ebbe rialzo febbrile, violenta eruzione erisipeloide locale, ed in uno seguì lo sviluppo di un ascessolino svuotatosi in quarta giornata.

La inoculazione per scarificazione corneale in due conigli praticata col materiale salivare della stessa donna quindici giorni dopo la completa guarigione dell'erpete labiale, diede risultati negativi.

Nella saliva di portatori di erpete labiale, si può mettere in evidenza la presenza del virus erpetico: questo però sembra scomparire dalla saliva poco dopo la guarigione del processo erpetico labiale.

b) La saliva totale di due individui portatori di vivaci eruzioni erpetiche genitali (ambedue presentarono già frequentissime recidive sempre nelle stesse sedi) viene raccolta e centrifugata a fondo; il materiale solido e la parte soprastante appena opalescente vengono usati in parte come tali, in parte diluiti a metà con glicerina 50 %. Questi diversi materiali vengono inoculati sopra scarificazioni corneali di otto conigli; nessuno di questi animali presentò reazione caratteristica; le scarse e fugaci alterazioni irritative corneali esaminate istologicamente, non dimostrarono di possedere alcuna nota propria del processo erpetico.

Nella saliva di portatori di erpete genitale (recidivante) può mancare la presenza del virus erpetico.

V. — Erpete cutaneo umano sperimentale.

Dei quattro ceppi di virus erpetico usati come punto di partenza per queste ricerche, due diedero risultati costantemente negativi, cioè non si ottenne col materiale da essi fornito la riproduzione della eruzione nè sulla cute del soggetto stesso nè su quella di altre persone (quattro tentativi su individui di diversa età e sesso ed in sedi diverse); si trattava in un caso di erpete labiale (con febbre dopo arsenobenzolo), nell'altro di erpete recidivante catameniale delle grandi labbra; controllo positivo sulla cornea del coniglio.

Gli altri due ceppi invece, un erpete labiale del tipo idiopatico ed un erpete genitale recidivante in sifilitico, fornirono materiale molto virulento per l'uomo.

In tutt'e due i casi si è effettuato dapprima un autoinnesto, sopra scarificazioni praticate sulla faccia interna della coscia nel caso dell'erpete genitale, sull'avambraccio nel caso dell'erpete labiale.

Il risultato fu nettamente positivo: comparsa sopra fondo erite-

mato-edematoso, in 18^a-24^a ora, di un gruppetto di efflorescenze vescico-pustolose, accompagnata da prurito e cocciore vivace; reperto microscopico e prove biologiche animali positive.

Da queste manifestazioni, in seconda e quarta giornata di sviluppo, si preleva il materiale che viene trasportato sulla cute degli stessi portatori o di altri individui.

In complesso furono praticate circa sessanta inoculazioni, sopra ventotto soggetti, applicando in ognuno di essi una o più maniere d'innesto e scegliendo varie zone della cute, in vicinanza delle sedi normali di predilezione delle eruzioni erpetiche o in punti molto diversi o lontani.

Di tutte queste prove si possono così riassumere i risultati:

1) Di fronte allo stesso virus erpetico, di origine umana e di provata attività sull'uomo stesso e sugli animali, il modo di comportarsi dei diversi individui è molto variabile, talora in rapporto con determinate circostanze, tal'altra invece senza particolari ragioni apparenti.

Sembra anzitutto che bambini e vecchi si trovino in particolari condizioni di refrattarietà verso il virus erpetico; in quattro bambini e due uomini di età superiore ai sessant'anni non fu possibile riprodurre la eruzione erpetica. Negli individui di età giovanile o media l'attecchimento sembra, a parità delle altre condizioni, non influenzato dal sesso nè da particolari condizioni morbose individuali; non sembra che i sifilitici siano più recettivi dei non sifilitici; gli individui soggetti già in precedenza ad eruzioni erpetiche reagiscono pure come altri individui immuni per il passato da tali affezioni.

Vi sono individui che sembra oppongano una refrattarietà assoluta all'attecchimento del virus; naturalmente ciò non si potrebbe affermare, e sempre con certe restrizioni critiche, se non con una serie molto più numerosa di prove con ceppi di virus molto svariati.

2. Una circostanza di notevole importanza perchè l'attecchimento abbia luogo è rappresentata indubbiamente dallo stato di concentrazione del virus; molto facili e intense reazioni si hanno con virus puro, trasportato direttamente da lesione a lesione; quando si raggiungono diluizioni piuttosto forti del virus (1:25; 1:50 in soluzione fisiologica) le probabilità di attecchimento scemano notevolmente.

3. Il modo di innesto del virus ha pure indiscutibile importanza; si possono avere risultati positivi sia colla inoculazione sopra lievi scarificazioni (e tanto più belle e nette quanto più lievi), sia colla iniezione intradermica di materiale virulento; questo secondo modo d'innesto è però meno favorevole, come frequenza di risultati, mentre d'altra parte, quando riesce positivo, dà le vescicolazioni più pure e più caratteristiche.

4. Per quel che riguarda la sede dell'inoculazione, si deve riconoscere che essa ha pure una discreta importanza, nel senso che nei soggetti recettivi, l'attecchimento è più sicuro e le manifestazioni meglio sviluppate nella vicinanza delle sedi colpite naturalmente dal processo erpetico o nelle sedi stesse (contorni boccali e genitali), ma l'inoculazione può avere esito positivo anche in sedi lontane, come avambraccio, collo, gambe; in altri individui poco recettivi si hanno esiti sempre poco netti anche mutando la sede dell'inoculazione. Non è riuscita la riproduzione del processo nel cuoio capelluto e sul palmo delle mani.

5. Il periodo di incubazione è, per il primo trapianto, sensibilmente uguale nei vari casi, se si mantiene come punto di confronto fisso la comparsa della vera eruzione vescicolosa; cioè di 24 ore.

Però se si considerano i primi sintomi infiammatori, la comparsa di essi può variare notevolmente, da pochissime ore a 16 e 20 ore; siccome è difficile far la parte esatta a quel che è dovuto alle svariate reazioni aspecifiche che spessissimo accompagnano la eruzione erpetica e che si vedono comparire e regredire più o meno rapidamente anche nei casi negativi (controllo microscopico), si deve valutare come specialmente importante il reperto clinico caratteristico della microvescicolazione, nei casi nei quali essa si verifica in modo rilevabile. La comparsa delle prime lesioni caratteristiche a carico delle cellule epiteliali, rilevabili facilmente all'esame microscopico (strisce colorate col bleu policromo o col verde metilepironina), è molto precoce e precede di parecchio la comparsa di sicuri sintomi clinici; essa si inizia già alla sesta ora ed è di solito molto manifesta alla dodicesima ora.

6. L'aspetto clinico delle lesioni cutanee è notevolmente diverso da caso a caso e si devono a questo proposito tener distinte due evenienze: o comparire, dopo il solito prodromo eritematoso, la vera tipica vescicola, oppure questa, nel senso clinico della parola, manca.

Nel primo caso si possono avere gradi differenti dello stesso processo, cioè: intenso eritema, edema circoscritto ad una zona rotondeggiante attorno alla sede della scarificazione, formazione di una piccola placca di aspetto papulo-pomfoide, e su questa si elevano poi vescicolette cupuliformi, di volume molto piccolo o discretamente voluminose (miglio-pisello), a contenuto quasi immediatamente torbidiccio, e per lo più molto presto purulento; alla apertura di questa raccolta sieropurulenta (terzo giorno) sussegue uno stadio di ulcerazioni superficiali ben delimitate, talora a riparazione molto lenta discretamente suppuranti; ordinariamente si ha la restituzione in ottava-decima giornata allo stato normale. Le

vescicole possono comparire isolate, in numero scarso, oppure nettamente raggruppate, in parte fuse, all'infuori delle linee di scarificazione, oppure possono disporsi lungo queste, specialmente alle loro estremità.

Nel secondo caso si può verificare uno stadio più o meno accentuato di eritema e di edema nella zona inoculata, che raggiunge il suo massimo sviluppo lungo la linea di incisione, le labbra della quale appaiono tumefatte, arrossate, leggermente extraflesse od invece un poco sottominate sopra un fondo occupato da secrezione purulenta; manca però la comparsa di una formazione clinicamente apprezzabile di vescicolazione o pustolazione, sia pure molto limitata, tanto che si sarebbe indotti ad ammettere un esito negativo dell'inoculazione; ma l'esame microscopico del materiale raccolto lungo i margini delle incisioni permette di affermare che l'epitelio cutaneo è andato incontro anche in questi casi di lesione diffusa abortiva, allo stesso processo ipertrofico e degenerativo che riscontriamo nella vescicola tipica di erpete; l'inoculazione poi col materiale stesso sulla cornea del coniglio dà luogo alla solita reazione cherato-congiuntivale.

7. E' possibile con successivi trasporti dello stesso virus sia sulla cute del portatore stesso primitivo o secondario, sia su differenti soggetti, ottenere un certo numero di trapianti con manifestazioni erpetiche dei due tipi descritti; però questi passaggi in serie riescono in numero molto limitato, qualunque sia la sede prescelta ed il mezzo di inoculazione.

L'autoinnesto in serie non fu potuto ottenere al di là del quarto passaggio; l'eteroinnesto si potè condurre non oltre il quinto passaggio; si ha una graduale diminuzione della virulenza verso la cute umana, con manifestazioni sempre più attenuate e infine con risultato negativo, quando anche lo stesso materiale conserva però tuttora attività più o meno spiccata per la cornea del coniglio.

L'eteroinnesto può riuscire positivo in individui che hanno superata da poco tempo (un mese-quindici giorni) un'infezione erpetica naturale o artificiale; si può verificare anche in sedi vicinissime a quella precedentemente colpita (1-2 centimetri), non è però riuscita l'inoculazione sopra lo stesso preciso punto (forse in rapporto colle alterazioni nella struttura dell'epidermide in seguito alle scarificazioni subite?).

8. Dal punto di vista anatomopatologico il processo erpetico sperimentalmente provocato sulla cute umana corrisponde in maniera quasi perfetta a quelli che si osservano nell'erpete spontaneo; le differenze che si notano debbono esser messe in gran parte a carico del modo di inoculazione, che provoca delle lesioni cellulari traumatiche, facilita l'impianto di germi svariati con reazioni infiam-

matorie di carattere non specifico: piccole suffusioni emorragiche, infiltrazioni notevoli di elementi polinucleati nel derma fra le cellule epiteliali, sfaldamenti cellulari e fenomeni di attiva cariocinesi negli epitelii per riparare alla perdita di sostanza artificialmente provocata. Tenuto conto di queste premesse e basandosi specialmente sulle osservazioni praticate sopra le vescicole sorte all'infuori delle linee di scarificazione, si può dire di trovarci davanti alle note caratteristiche del processo erpetico spontaneo.

Praticando colorazioni opportune (specialmente indicati il bleu policromo, il verde metile e pironina, il Mann, l'ematossilina ferrica, il Giemsa, le impregnazioni argentiche) sopra materiale disteso sopra vetrini oppure sopra sezioni di pezzi inclusi (non facili a procurarsi) si può seguire il processo di reazione di tipo degenerativo che si compie nell'interno degli epitelii ed intorno a questi, limitato dapprima ad un gruppetto di pochi elementi dello strato basale e poligonale, poi diffuso a maggior numero di cellule e complicato da fenomeni infiltrativi. Il seguito delle alterazioni cellulari si può così stabilire: rigonfiamento e impallidimento del protoplasma che assume male i colori e dimostra una struttura finemente granulosa; edema intercellulare, scomparsa della fibrillazione intercellulare, isolamento della cellula che acquista forma nettamente globosa; modificazioni nucleari, che nelle cellule più intensamente colpite si manifestano nel senso di un aumento di volume, diminuzione apparente della cromatina che si raccoglie come ad anello alla periferia del nucleo, spostamento del nucleolo pure alla periferia con diminuzione del suo volume e trasformazione in corpicciuolo globoso od ovoidale o semilunare (intensamente pironinofilo); nelle cellule meno direttamente interessate si osserva la formazione di un idrope perinucleare ed un raggrinzamento del nucleo, che appare come accartocciato, con cromatina addensata e nucleo ben conservato in mezzo ad una piccola cavità al centro della cellula. Più tardi si nota che una parte di questi elementi epiteliali si trasforma in cellule molto più voluminose, tondeggianti, ovalari, a racchetta, di forma irregolare, con margini privi di ciglia, a protoplasma mal colorabile, finemente granuloso, oppure perfettamente omogeneo e compatto; nell'interno di questo campo protoplasmatico si osserva un numero variabile di nuclei, da due a cinquanta e più, che corrispondono ai due tipi sopradescritti; o raggrinzati, allungati, appiattiti, quasi compressi l'uno contro l'altro, con cromatina addensata; oppure rigonfi, di aspetto ovulare, a periferia limitata da anello sottile cromatinico, contenuto pallido, nettamente granuloso od a piccolissime zolle, nucleolo unico o duplice, piccolo, ovoidale o bastoncinoforme, o semilunare, alla periferia; se i nuclei sono due soli appaiono affacciati come grani di caffè, se in scarso

numero sono avvicinati e affiancati in vario modo sopra uno stesso piano; se molti, sono raccolti regolarmente in mucchio al centro cellulare talora quasi sfaccettati per reciproci contatti, (aspetto dendritiforme per accollamento centrale delle bucce cromatiniche), tal'altra accumulati disordinatamente senza perdere le loro caratteristiche morfologiche. In molti casi si può seguire molto esattamente il processo di formazione di questi giganteschi elementi nel senso di un accollamento di due o più cellule epiteliali vicine che si vanno fondendo per le loro parti in contatto mentre conservano parzialmente la loro indipendenza nelle parti opposte; una costituzione sinciziale per fusione di più elementi epiteliali si deve ammettere in base a tali reperti. In altri casi però la sproporzione enorme fra grandezza delle cellule e numero dei nuclei, la forma nettamente tondeggiante fin dall'inizio della cellula-madre, la presenza nelle grosse cellule di una specie di grosso alone più compatto periferico che racchiude un gruppo numeroso di nuclei al centro (come uova in un nido), l'impoverimento progressivo dei nuclei in cromatina, sembrano deporre per una ripetuta riproduzione amitotica rapidissima dal nucleo originale della cellula-madre. L'isolamento delle cellule epiteliali per edema intercellulare sempre crescente, le infiltrazioni di polinucleati in questi spazi intercellulari, l'afflusso continuo di sierosità determinano la formazione di piccole cavità nelle quali sono raccolte le cellule così alterate e che proseguono la loro involuzione resistendo però notevolmente a lungo ai processi di disfacimento. Alcuni elementi si disfanno, perdono a poco a poco il corpo protoplasmatico, il nucleo rimane ultimo e finisce poi col frammentarsi in granuli compatti; altri elementi conservano più a lungo la loro forma ed i caratteri sopradescritti, poi il corpo nucleare non si colora più affatto e perde la struttura granulosa, l'anello cromatinico periferico si spappola e presenta caratteri di metacromasia, il nucleolo scompare; talvolta compare nel protoplasma una gran quantità di granuli irregolari, pironinofili, che poi, sfacendosi il protoplasma, si liberano cogli altri detriti cellulari in seno alla cavità ripiena ormai di cellule purulente, in gran parte neutrofile, in piccola parte eosinofile, globuli rossi, rari linfociti, granuli di pigmento, germi svariati.

Il processo di minuta alterazione che corrisponde alle grossolane alterazioni descritte si svolge essenzialmente nel nucleo e si può riassumere nel suo complesso nella comparsa in primo tempo di corpi molto diversi per forma e volume, più o meno vivacemente acidofili, ora tondeggianti ora ovalari, più spesso irregolari, angulosi, talvolta ad anello, a contorni per lo più sfumati; in periodi successivi sembra che queste formazioni corpuscolari voluminose, per lo più uniche per ogni cellula, vadano frammentandosi, dividendosi in zolle, infine per così dire polverizzandosi, in modo che nel

nucleo a tipo vescicoloso definitivo, si osserva un contenuto più o meno stipato di corpicciuoli o piccole sferette non sempre intensamente nè costantemente acidofile, anzi sovente molto difficili a mettersi in evidenza, che riempiono il corpo nucleare come il grano farebbe d'un sacco. Questo fenomeno si mette in evidenza specialmente bene nell'erpete sperimentale umano, colla ipercolorazione col Giemsa, in pressochè tutti i nuclei, sia quando si ritrovino unici in una cellula più o meno alterata, sia quando si raggruppino in numero anche molto rilevante dentro ad un corpo protoplasmatico relativamente molto ridotto.

Il procedimento di formazione delle vescicole per costituzione di reticolati protoplasmatici da accollamento di parti sottili di cellule enormemente rigonfie e loro successiva fusione, è certamente più raro a verificarsi, di quello ora descritto, ma si può metterlo in evidenza specialmente nelle zone periferiche della zona in cui si svolgono le reazioni cellulari. Un grande numero di cariocinesi nelle cellule basali delle zone circostanti dimostra una vivace tendenza alla riparazione rapida del vuoto lasciata dal processo distruttivo. Non è facile rendersi conto con esattezza delle formazioni descritte da varii autori come inclusioni a carattere di specificità; probabilmente si sono identificate formazioni diverse per origine e per natura, e molte di esse non hanno altro valore che quello di alterazioni regressive cromatiniche e molecolari; certamente si osservano in grande prevalenza in elementi alterati nella loro struttura ed in preda a processi distruttivi più o meno avanzati, e le loro proprietà tintoriali, l'assenza di struttura ben definita, la sede nucleare o protoplasmatica od extracellulare, dànno adito alle più diverse interpretazioni.

Non si può negare che esistano analogie notevolissime fra la struttura ed il meccanismo di sviluppo delle anomalie cellulari nell'erpete e nel mollusco contagioso: rigonfiamento protoplasmatico e nucleare, alterazioni cromatiniche e nucleolari, formazione di corpi e di corpuscoli, questi ultimi sotto forma di ammassi polverulenti racchiusi in una specie di buccia o sacchetto vescicoloide; ma nel mollusco il fenomeno si compie essenzialmente nel protoplasma, nell'erpete invece nel nucleo; in questa affezione si ha poi la produzione di una alterazione anche grossolana dei nuclei stessi con divisione amitotica o raggruppamento sinciziale in un'unica cellula gigantesca, il che non avviene nel mollusco; qui si tratta di un processo cronico, a tipo neoformativo-degenerativo senza reazioni infiammatorie; mentre nell'erpete si tratta di un processo acuto a tipo essudativo, con vivace risentimento vascolo-interstiziale e tendenza a diffondersi nell'organismo; finora infine le proprietà biologiche e patogenetiche dei due virus si debbono ritenere molto diverse.

Si può ottenere sperimentalmente per auto-innesto od eteroinnesto con una certa facilità per scarificazione e più difficilmente per via intradermica la riproduzione sulla cute umana di una eruzione erpetica che corrisponde clinicamente ed anatomicamente a quella spontanea; si può verificare la trasmissione in serie dei trapianti cutanei fino al quinto passaggio; l'attecchimento non è costante ed è regolato da svariate condizioni individuali e generali; si osservano forme abortive, (erpete senza vescicole) non diagnosticabili clinicamente, ma solo microscopicamente; la degenerazione globiforme nei suoi varii aspetti rimane il più semplice e sicuro mezzo di diagnosi microscopica della infezione erpetica; sembra si debba ammettere una immunità cutanea solo strettamente locale dopo una prima infezione erpetica.

VI. — Erpete sperimentale cutaneo negli animali.

Il materiale di vescicole di erpete volgare in pieno sviluppo sulla cute del prepuzio di individuo affetto da multiple ulcere veneree viene portato sopra lievi scarificazioni piuttosto distanziate, praticate sulla cute della faccia interna della coscia destra del malato stesso. In dodicesima ora si ha lieve eritema limitato ai margini della linea di scarificazione; in ventiquattresima ora si ha una chiazza di eritema pomfoide della grandezza di un soldo, a margini ben delimitati e rilevati; il fondo delle incisioni lineari appare occupato da una secrezione giallastra piuttosto abbondante; in quarantottesima ora si osserva sulla placca arrossata intensamente un gruppo di otto vescicole molto ben sviluppate, di una grossezza variabile fra una testa di spillo ed un piccolo pisello, a contenuto leggermente torbido, le quali sono raccolte in due gruppetti, in due zone intermedie alle scarificazioni praticate.

L'esame istologico dimostra trattarsi di tipiche vescicole di erpete e la inoculazione del materiale da esse prelevato determina una violenta cherato-congiuntivite in un coniglio, seguito da encefalite (morte in sesta giornata).

Una parte del materiale delle stesse vescicole viene trasportato sopra scarificazioni superficiali praticate nella cute depilata (collo strappamento) del dorso di tre conigli. Uno di questi animali (coniglio N. 1) non presenta che un leggerissimo fugace arrossamento ai margini della incisione cutanea e sopravvive senza presentare alcun sintomo locale o generale degno di nota (dopo 95 giorni).

Un secondo animale (coniglio N. 2) presenta in ventiquattresima ora un arrossamento moderato della zona scarificata con secrezione sieropurulento-ematica rappresa in crosticine nel solco delle scari-

ficazioni; l'esame microscopico non dimostra in questa sede nessuna alterazione caratteristica rispetto al processo erpetico cutaneo. Il coniglio, in quarta giornata, si mostra abbattuto, non mangia; in quinta giornata si ha passeggera paresi del treno posteriore; in sesta giornata ha mioclonismi del torace, contratture fugaci del collo verso il dorso, movimenti masticatori, salivazione, caduta sul fianco, ipertermia; in settima giornata cade in stato comatoso e muore. L'esame del sistema nervoso centrale dimostra le solite alterazioni (infiltrative perivasali e pericavitarie con grande prevalenza di cellule mononucleate sulle polinucleate, rare cellule plasmatiche, rigonfiamento degli endotelii, piccole emorragie, satellitosi) sparse nel bulbo, nei nuclei della base, nella corteccia temporosfenoidale, nel corno d'Ammon; la sostanza cerebrale, spappolata e lasciata in glicerina 50% per giorni otto in ghiacciaia, viene inoculata sottodura ad un coniglio, che muore con sintomatologia spiccatamente paralitica in quinta giornata.

Il coniglio N. 3, inoculato sulla cute depilata del dorso col materiale erpetico umano di autotrapianto presenta in ventiquattresima ora un intenso eritema su base edematosa, su tutta la zona scarificata; in quarantottesima ora la chiazza eritematosa si è notevolmente infiltrata, rilevata ai margini e si osserva sulla sua superficie un grande numero di minutissime rilevatezze cupuliformi translucide; in terza giornata molti di questi rilievi si sono trasformati in bellissime vescicole e vescico-pustole di varia dimensione (per lo più grosse come semi di canapa). L'esame istologico di queste formazioni dimostra una tipica struttura perfettamente corrispondente a quella dell'erpete umano.

L'animale presenta poi un quadro poco dissimile da quello presentato dal coniglio N. 2; paresi e poi paralisi del treno posteriore, fenomeni spastici dei muscoli del torace e del collo, digrignamento dei denti, caduta sopra un lato, coma, morte in decima giornata. La porzione dorso-cervicale del midollo spinale di questo animale (lesioni poco accertate microscopiche di infiltrazioni perivascolari e interstiziali, satellitosi) spappolata e lasciata in glicerina pura per tre giorni a 37°, viene inoculata sottodura ad un coniglio, che muore con sindrome eccitatoria-paralitica in settima giornata.

L'esame del materiale prelevato dalle lesioni erpetiche cutanee degli animali, eseguito con strisci opportunamente colorati oppure sopra sezioni di pezzi inclusi in paraffina, è una preziosa fonte di ricerca per studiare le alterazioni cellulari determinate dal virus erpetico, ancor più della cornea, per la maggiore affinità strutturale dell'epitelio cutaneo del coniglio con quello dell'uomo e per la possibilità di prelevare il materiale stesso al momento voluto, cosa che non riesce sempre facile nell'uomo.

In complesso le lesioni osservate sono identiche a quelle descritte nell'uomo, spesso molto imponenti per diffusione e per la presenza di enormi cellule globiformi.

Uno speciale carattere è loro assegnato dal terreno sul quale si svolgono, profondamente alterato per il meccanismo di depilazione violenta al quale fu sottoposto. Si sa che questo procedimento determina nell'epitelio di rivestimento e specialmente in quello dei follicoli piliferi un intenso processo di reazione riparatrice che si sviluppa entro 5-8 giorni e si manifesta sotto la forma di ipertrofia cellulare, protoplasmatica e nucleare, riproduzioni cariocinetiche estremamente numerose, attività di riassorbimento del materiale da eliminarsi residuo dal vecchio pelo e di ricostruzione del pelo nuovo, afflusso di siero, linfa ed elementi infiltrativi attorno ai vasi della rete profonda. Si deve ritenere che un terreno in condizioni così particolari si presti in modo tutto speciale all'attecchimento del virus erpetico, come ha stabilito il Levaditi per il vaccino ed in relazione coll'osservazione già fatta dallo stesso autore di una particolare affinità dei virus del gruppo erpetico-vaccinale-epiteliomatoso per i tessuti in via di iperproduzione (iperplasia o metaplasia). Sta il fatto che in questa epidermide non solo, ma nelle stesse appendici epidermiche nel derma, si osservano reazioni cellulari di tipo erpetico di una grandissima diffusione, intensità e approfondamento; non solamente cioè si assiste al completo sviluppo delle lesioni già descritte a proposito dell'erpate umano sperimentale, là dove si viene a costituire una vera e propria vescicola, ma alterazioni di tipo nettamente erpetico si osservano anche diffusamente, in maniera sparsa, o sotto forma di focolaio, in seno all'epidermide apparentemente normale, anche ad un primo esame microscopico a piccolo ingrandimento ed infine anche nei cordoni e nelle colonne di cellule epiteliali che si affondano nel derma medio e profondo. Nell'epidermide si notano qua e là in pieno strato malpighiano, dei gruppetti di elementi epiteliali che vanno isolandosi dal tessuto circostante, sono circondati da spazi dilatati, ripieni di siero, perdono le ciglia, assumono una forma nettamente globosa, subiscono quelle alterazioni protoplasmatiche, cromatiniche e nucleolari che conducono alla formazione dell'elemento gigantesco a più nuclei così caratteristico; è possibile qui pure constatare che avvengono fenomeni di accollamento e fusione di elementi vicini così da costituire un sincizio polinucleato, ma non si può affatto escludere che anche la genesi per divisione interna nucleare in una sola cellula madre rappresenti uno dei meccanismi di formazione di queste cellule speciali.

Nel follicolo pilifero vuoto di scapo pilare ed in via di ricostituirlo si notano, specialmente a carico delle grosse cellule ricche di protoplasma delle guaine esterne, al di sopra della zona papillare, delle

alterazioni nel volume, nella forma, nello stato del protoplasma e del nucleo che ricordano perfettamente quelle così tipiche e abbondanti a carico dell'epidermide; rigonfiamento, edema, omogeneizzazione dopo uno stato di grossolana granulosità del protoplasma, spostamento della cromatina alla periferia o disposizione dendritiforme della cromatina con successiva divisione del nucleo in tanti piccoli corpi tondeggianti nucleiformi, costituzione di elementi voluminosi a più nuclei con caratteri degenerativi. Le reazioni infiltrative sono qui anch'esse più rilevanti che nell'erpete umano: il derma alto e medio e, specialmente intorno ai follicoli, anche il derma profondo appaiono fittamente infiltrati da elementi polinucleati in grandissima prevalenza con granulazioni acidofile; essi invadono e infiltrano l'epitelio e si raccolgono in modo compatto alla base della vescicola, che poi invadono trasformandola in pustola; essi formano un anello compatto attorno ai follicoli e ne invadono e divaricano le colonne cellulari; rari i mononucleati grandi, i linfociti e le cellule plasmatiche; mancano le cellule giganti.

I granuli acidofili dei polinucleati, fuorusciti dagli elementi nei quali si sono formati, si spargono diffusamente fra le cellule epiteliali e nel tessuto interstiziale e si trovano anche dentro agli stessi elementi epiteliali in via di degenerazione. Un esame praticato coi metodi adatti (modificazioni del Ruffini) sopra le vie nervose della zona occupata dalle lesioni erpetiche non ha potuto dimostrare nessuna alterazione in qualche modo caratteristica: non si nota che edema e qualche infiltrazione diffusa, quali si osservano sparse dappertutto nel tessuto di sostegno.

Il virus erpetico può provocare in un limitato numero di casi, sopra la pelle del coniglio depilata (per strappamento dei peli) una eruzione di vario grado di tipo nettamente erpetico; a questa lesione può tener dietro un processo ascendente mielo-encefalitico di natura erpetica, ad esito letale. Le alterazioni anatomiche che si riscontrano nell'erpete sperimentale cutaneo sono identiche a quelle dell'erpete umano, molto estese in superficie ed in profondità; erpete senza vescicole; lesioni erpetiche a carico degli elementi profondi dei follicoli. La mieloencefalite erpetica può tener dietro anche al passaggio del virus erpetico attraverso la cute non colpita dal processo erpetico.

VII. — Erpete sperimentale genitale negli animali.

Con materiale molto virulento di cheratite erpetica di coniglio (in terza giornata di sviluppo) si praticano inoculazioni dei seguenti animali:

Conigli femmina A-B: su scarificazioni alla vulva ed ai contorni dell'ostio vulvare.

Conigli maschi C-D: su scarificazioni alla cute del pene e mucosa del prepuzio e glande.

Coniglio maschio E: nel parenchima del testicolo.

La coniglia A osservata per giorni quindici, non presentò nessuna manifestazione nè locale nè generale.

La coniglia B, dopo un periodo di inoculazione di giorni tre presenta un vivo arrossamento ed edema diffuso dell'ostio vulvare e della mucosa vaginale e su questo terreno insorgono in quarta giornata molteplici vescicoline, che passano presto allo stato di pustole; la mucosa permane arrossata, intensamente edematosa, facilmente emorragica.

In sesta giornata, la lesione ha assunto uno sviluppo di notevole intensità: iperemia, edema cutaneo mucoso con extraflessione vaginale, essudazione diffusa, qualche pustolina che va disseccandosi. In ottava giornata si ha l'inizio della regressione del processo ai genitali. In nona giornata l'animale presenta paralisi dello sfintere vescicale (sgocciolamento continuo d'urina), è depresso, mangia di malavoglia; in decima giornata mostra paresi del treno posteriore, non preceduta da fenomeni irritativi. In undecima giornata l'animale presenta mioclonismi al torace, movimenti spastici degli arti anteriori, paralisi del treno posteriore; continua la paralisi dello sfintere vescicale; non mangia; rialzo febbrile a 40°. In dodicesima giornata si osserva grave prostrazione; l'animale giace sopra un fianco; qualche contrattura clonica degli arti anteriori e dei muscoli del collo; movimenti masticatorii; salivazione, rialzo febbrile a 40°. In tredicesima giornata si ha paralisi completa degli arti, stato di profonda depressione, interrotto appena a lunghi intervalli da brevi scosse muscolari del capo; non si ha trisma nè opistotono; ipotermia, ritenzione d'urina, morte in coma. All'autopsia si osserva vescica enormemente ripiena, iperemia diffusa del fegato e del rene, stasi polmonare; lesioni iperemiche e punteggiature emorragiche midollari e cerebrali. Reperto microscopico di mieloencefalite coi caratteri più frequenti a osservarsi nella forma erpetica. Nulla di speciale a carico delle ovaie.

Dalle lesioni vescicolose ai genitali esterni della coniglia B si preleva in sesta giornata del materiale che fornisce dati istologici caratteristici del processo erpetico; in parte esso viene adoperato per praticare i seguenti passaggi: nel coniglio 1, per via corneale si ottiene una tipica cheratite col normale periodo di incubazione ed il comune reperto istologico; passaggio in serie positiva corneale nella coniglia A ed in altro coniglio nuovo; nel coniglio 2, per via sottodurale si presentano in terza giornata fenomeni nervosi eccitatorii propri della meningoencefalite erpetica, seguiti a brevissima distanza da fenomeni paretici; morte in quinta giornata in coma (conferma istologica); sulle coniglie 3-4 sopra la mucosa dei

genitali esterni e sui contorni anogenitali. La coniglia 3 non presenta nè attecchimento locale nè sintomi generali (dopo un mese).

La coniglia 4, dopo una incubazione di 48 ore, presenta un quadro reattivo ai genitali esterni che per la sintomatologia eritemato-vescicolo-pustolosa, e per il decorso corrisponde in tutto a quelle descritte a proposito della coniglia *B*. Inoculata in settima giornata con materiale erpetico corneale sulla cornea *O. D.* presenta tipica cheratite; in nona giornata si iniziano pure in questo animale fenomeni nervosi paretici a carico dello sfintere vescicale, poi seguono: cattivo stato generale attivo, paresi treno posteriore, leggeri fenomeni di mioclonismo toracico ed a carico degli arti anteriori e del collo, febbre, movimenti pendolari e rotativi del capo, paresi treno anteriore, coma, morte in tredicesima giornata: qui non si è osservata una così spiccata ritenzione urinaria come nel primo animale; il reperto anatomopatologico del sistema nervoso è uguale a quello osservato nel primo caso.

Coniglio *C*: nessun risentimento specifico locale (fugace rossore ed edema, senza reperti caratteristici microscopici) nè sintomatologia nervosa. Inoculato dopo un mese alla cornea con materiale virulento erpetico (cheratite) presenta tipica cheratite.

Coniglio *D*: In quarta giornata il prepuzio è sede di un vivo edema e rossore ben circoscritto attorno alla zona di scarificazione; compaiono quivi in quinta giornata vescicoline e pustoline su fondo arrossato e macerato; rapida regressione dei sintomi locali con disseccamento degli elementi eruttivi e diminuzione dell'edema e del rossore; tutto è tornato alla norma in dodicesima giornata. Nessun seguito di fenomeni nervosi.

Dalle vescicopustole in sesta giornata si preleva del materiale (lesioni cellulari tipiche per l'erpate) che viene utilizzato per i passaggi seguenti: su coniglio 5; sulla cornea (scarificazioni); esito nettamente positivo locale e morte per encefalite in nona giornata; su coniglio 6: sui genitali esterni; si osservano reazioni caratteristiche eritemato-vescicolo-pustolose (controllo istologico e biologico corneale) dopo un periodo di incubazione di 36 ore; decorso rapido a guarigione; in ottava giornata si inizia però uno stato di paresi dello sfintere vescicale, cui segue subito paresi del treno posteriore; in decima giornata si ha la morte con fugaci fenomeni eccitatorii bulbo-cerebrali seguiti da depressione e coma; rialzo febbrile fugace, poi ipotermia; ritenzione terminale di urina. Lesioni nervose istologiche caratteristiche, scarsissime a carico del midollo, intense a carico del cervello.

Coniglio *E*: già 48 ore dopo l'iniezione del materiale erpetico nel parenchima testicolare si osserva una tumefazione discreta dell'organo, che appare ricoperto da cute leggermente arrossata. Nei giorni successivi il turgore del testicolo appare sempre maggiore,

con crescente tensione della cute sovrastante, di colore cianotico, però non aderente; non si osserva nessuna tendenza alla suppurazione parenchimale.

L'animale appare depresso, rifiuta il cibo; in ottava giornata si ha il maggiore sviluppo delle alterazioni testicolari sempre cogli stessi caratteri; si asporta il testicolo, che appare di un volume di un terzo superiore a quello normale, di consistenza solida e, aperto, non mostra traccia di raccolta purulenta; la sezione di taglio appare bianco-giallastra o grigiastra. In undecima giornata l'animale comincia a presentare i primi sintomi a carico del sistema nervoso, sotto forma di tentennamenti del capo, barcollamento, contrazioni cloniche dei muscoli degli arti anteriori e del collo; segue paresi degli arti posteriori; caduta sopra un fianco, rare scosse convulsive generalizzate, movimenti masticatorii, stato comatoso, morte in quattordicesima giornata.

Nel sistema nervoso centrale si osservano diffuse notevoli lesioni di tipo erpetico; la sostanza cerebrale, spappolata e inoculata sottodura ad altro coniglio, provoca in questo il quadro della encefalite.

Col succo testicolare, spappolato in fisiologica (1:2) si eseguono passaggi sopra scarificazioni corneali, sopra scarificazioni ai genitali esterni e per via endotesticolare in altri conigli; un animale, inoculato alla cornea, reagisce con cheratocongiuntivite caratteristica; di due conigli, uno maschio ed uno femmina sottoposti ad inoculazione su scarificazioni genitali, la femmina sola presenta tipiche lesioni erpetiche (controllo istologico e biologico corneale) e soccombe a mieloencefalite in dodicesima giornata; un coniglio inoculato nel parenchima testicolare presenta una reazione infiltrativa, non suppurativa dell'organo coi caratteri osservati nel primo coniglio e sopravvive tuttora (dopo quindici giorni) senza presentare sintomi nervosi; la polpa testicolare di questo ultimo animale, prelevata in sesta giornata, determinò cheratite in altro coniglio.

Le alterazioni anatomopatologiche che si riscontrano in corrispondenza delle manifestazioni erpetiche ai genitali esterni dei conigli (cute e mucose) non presentano differenze essenziali da quelle già ripetutamente descritte a carico dell'erpete sperimentale cutaneo umano o animale.

Le variazioni che vi si riscontrano sono legate al terreno speciale sul quale esse insorgono e consistono essenzialmente in fenomeni reattivi più intensi a carico del tessuto di sostegno (imbibizione, vasodilatazione, piccole emorragie, infiltrazione) ed in una gravità maggiore delle lesioni degli epiteli, forse perchè più delicati e per le alterazioni secondarie più facili, dovuti alla sede speciale (traumatismi, macerazione urinosa).

Si ha perciò più precoce rottura delle vescicole, frequenza di

ulcerazioni superficiali, suppurazione più marcata, talora piccoli focolai di necrosi. Del resto il meccanismo di formazione delle vescicole e le lesioni cellulari protoplasmatiche e nucleo-nucleolari appaiono identiche a quelle descritte. L'esame praticato sui gangli linfatici regionali, che non apparivano visibilmente ingrossati dimostrò fatti infiammatorii specialmente a carico dei seni linfatici (desquamazione endoteliale, afflusso di polinucleati a granulazioni acidofile, accumulo di detriti cellulari e di pigmento) ma senza alcuna nota caratteristica; il materiale di uno dei gangli spappolato in qualche goccia di fisiologica sterile, inoculato per scarificazione corneale sopra un coniglio non determinò cheratite.

L'orchite erpetica è costituita da alterazioni interstiziali e parenchimatose nelle quali è difficile per ora precisare quello che è dovuto in modo esclusivo al virus erpetico e quello che può esser determinato da altri agenti patogeni penetrati nel testicolo colla introduzione del materiale erpetico. Il processo non è di tipo suppurativo acuto; la infiltrazione nel tessuto di sostegno intertubulare è data in parti uguali da elementi mononucleati, polinucleati a granulazioni acidofile e cellule plasmatiche; il connettivo è ipertrofizzato; le cellule interstiziali non appaiono particolarmente alterate, almeno non in modo primitivo; molti tubuli appaiono normali, altri invece profondamente alterati, sia per raccolta corpuscolare infiltrativa nel loro lume, sia per lesioni a carico degli elementi seminiferi, i quali vanno incontro a processi dapprima reattivi ipertrofizzanti, poi regressivi; arresto della normale evoluzione spermocitogena, rigonfiamento, spezzettature protoplasmatiche e nucleari, metacromasie, formazione di pseudocellule giganti, disfacimento granuloso; non ci pare possibile di stabilire per ora un parallelo fra le alterazioni osservate in questi elementi e quelle caratteristiche che si notano negli epitelii cutanei o mucosi nel processo erpetico.

Per quello che riguarda le alterazioni anatomopatologiche del sistema nervoso nei conigli morti in seguito a mieloencefalite di origine genitale, si noti che esse appaiono ora più evidenti nel midollo, ora più accentuate nel cervello, ma sempre presenti nelle due sedi. A carico del cervello non si può osservare nulla di diverso da quello che fu ripetutamente descritto a proposito della encefalite erpetica; noteremo solo la scarsezza delle lesioni meningei e la compartecipazione notevole al processo da parte del bulbo e dei nuclei della base.

A carico del midollo spinale si notano lesioni che corrispondono perfettamente a quelle ben descritte da Sala e Veratti nella mielite ascendente provocata da inoculazione endorachidea nel coniglio di materiale erpetico cerebrale. Con differenza nel grado di sviluppo e con prevalente, ma non esclusiva, localizzazione al tratto lombare del midollo, si osservano alterazioni del tessuto di sostegno e vasale ed

alterazioni neuroniche; le prime sono date da piccole emorragie, accumuli a manicotto perivasali od in focolaietti indipendenti dai vasi di elementi infiltrativi e di reazione istiotgena (linfociti, grandi mononucleati, plasmacellule, poliblasti), aumento degli elementi delle glie, ipertrofizzati; le seconde, talora minime, talaltra diffuse e profonde, sono rappresentate da edema e vacuolizzazione protoplasmatica, perdita della struttura tigroide, cariolisi, talvolta vero disfacimento cellulare.

I fenomeni di satellitosi sono frequenti e spesso molto accentuati. Le alterazioni meningeae appaiono poco sviluppate.

Si può sviluppare nel coniglio, per inoculazione con virus erpetico sulla cute e mucose dei genitali esterni, un quadro morboso costituito da eruzione erpetica genitale e mieloencefalite ascendente mortale; il virus erpetico può essere trasportato dalle lesioni erpetiche dei genitali esterni, sui genitali stessi, sulla cornea, sul sistema nervoso e nel testicolo di altri animali, colla riproduzione delle classiche lesioni erpetiche e, nell'ultimo caso, colla produzione di una orchite seguita pure da mieloencefalite erpetica.

Le lesioni del testicolo contengono virus attivo trasportabile sul testicolo e sulla cornea di altri animali. Durante il periodo di stato della eruzione erpetica corneale persiste immutata la recettività corneale per il virus erpetico.

VIII. — Tentativi di profilassi specifica contro il virus erpetico negli animali.

Due conigli vengono inoculati per via endovenosa per quattro volte consecutive, a distanza di tre in tre giorni, con materiale virulento erpetico corneale e cerebrale di coniglio, macerato per 24 ore a 37^a in acqua distillata 1:20, spappolato e triturato fino a omogeneizzazione; filtrato su carta (controllo positivo su cornea); non presentano nessun fenomeno reattivo generale nè localizzazioni del processo erpetico.

Dopo quindici giorni dall'ultima iniezione, sottoposti a inoculazione corneale l'uno e sottodurale l'altro, con materiale molto virulento erpetico corneale, presentano l'uno cheratite e l'altro encefalite erpetica coi soliti caratteri.

L'attecchimento del virus erpetico inoculato per via endovenosa si verifica difficilmente; queste inoculazioni, quando sortono esito negativo, non conferiscono immunità contro il virus inoculato direttamente sulla cornea o nel cervello.

IX. — Affinità del virus erpetico animale per la cute umana.

1. Il materiale molto virulento di cheratite erpetica di coniglio in quarta giornata, viene, previa omogeneizzazione con soluzione fisiologica 1:10, iniettato per via intradermica, in sei donne, nella regione dell'avambraccio (quattro delle donne erano affette da sifilide, due da metrite gonococcica); nessuna di esse presenta nel luogo dell'iniezione una reazione notevole (leggero arrossamento e rilevatezza pomfoide; nessuna reazione ghiandolare regionale nè risentimento generale).

Una delle donne (sifilitica) che, almeno a quanto riferisce, non ha mai presentato erpete ai genitali, quindici giorni dopo l'innesto, è colpita da una eruzione erpetica tipica al grande labbro di destra (periodo premestruale).

Il passaggio del virus erpetico dalla cornea del coniglio sulla cute umana per via intradermica si deve ritenere come un'evenienza rarissima. Mancano dati sicuri per affermare il passaggio del virus erpetico animale inoculato sulla cute nell'organismo, data la facilità colla quale può verificarsi la comparsa accidentale di eruzioni erpetiche anche in individui non inoculati.

2. Con materiale molto virulento di cheratite erpetica di coniglio in terza giornata si praticano cinque inoculazioni per via sottocutanea in tre uomini sifilitici e due donne blenorragiche e cinque inoculazioni per via intradermica in due donne blenorragiche e tre bambini tricotitici.

I cinque primi pazienti del primo gruppo non presentarono reazione degna di nota; leggero risentimento infiammatorio locale, fugace, senza reazione ghiandolare nè regionale.

Dei cinque soggetti del secondo gruppo, una sola delle donne presenta in 24^a ora un eritema rilevato papulo-pomfoide ben delimitato, che raggiunge il massimo sviluppo in terza giornata, senza che si notasse alla superficie nessun rilievo nettamente vescicoloso; regressione in 6^a giornata. Col materiale prelevato dalla lesione in 4^a giornata si provoca una tipica cheratite nel coniglio, ma l'esame microscopico non dimostra nell'epitelio le alterazioni caratteristiche dell'erpete.

Il sottocutaneo non si presta come via d'introduzione del virus erpetico animale corneale nell'uomo. Il virus introdotto nel derma vi può conservare la propria attività per almeno quattro giorni, senza dar luogo a lesioni erpetiche.

3. Da un erpete genitale femminile si ottiene lo sviluppo di un rigoglioso processo di cheratocongiuntivite in due conigli; il ma-

teriale molto abbondante, ottenuto con spappolamento in fisiologica e filtraggio su carta, dalla cornea asportata in terza giornata, e mantenuto per 48 ore in glicerina 50 % a 0°; viene usato per inoculazione in sedici individui, per vie diverse e coi risultati seguenti:

Piccola tasca dermica al braccio in quattro bambini (due tricotitici, uno sifilitico, uno eczematoso). Nessuna reazione specifica; in un bambino si ha un discreto processo suppurativo che per l'esame microscopico e per il controllo biologico non si deve ritenere di natura erpetica.

Iniezione intradermica: quattro uomini adulti; all'avambraccio (tre sifilitici ed un blenorragico); nessuna reazione affatto, o leggero eritema. Inoculazione sopra leggera scarificazione dell'avambraccio, in quattro donne (due sifilitiche, due blenorragiche); alla faccia interna della coscia in quattro uomini (tre blenorragici ed uno eczematoso).

In uno solo di questi ultimi soggetti si osserva, in sedicesima ora, un arrossamento vivace, in ventiquattresima ora un edema e rilievo papulo pomfoide ben delimitato, in trentaseiesima ora la formazione di due belle vescicolette che già in quarantottesima ora sono diventate pustoline. Controllo istologico e biologico animali positivi.

Il trapianto sperimentale del virus erpetico dalla cornea del coniglio alla cute umana si verifica con notevole rarità (1 volta sopra 16); la via migliore per determinare l'attecchimento è quella delle scarificazioni superficiali; si ottengono lesioni uguali a quelle spontanee; il virus si può riportare di nuovo sugli animali.

4. Da tre cervelli di conigli morti per encefalite subacuta erpetica (secondaria a cheratite erpetica) si preleva abbondante materiale di varie zone corticali e specialmente dalla regione del corno d'Ammon, e si usa, (previo spappolamento in fisiologica 1:5 dopo macerazione in glicerina 50% per 24 ore) per praticare:

a) iniezioni intradermiche all'avambraccio di 10 individui, sani o affetti da varie affezioni non cutanee, di varia età e dei due sessi. Nessuna reazione locale degna di nota, soprattutto nessuna comparsa di forme vescicolose; leggero eritema e rilievi pomfoidi fugaci;

b) inoculazioni sopra superficiali scarificazioni cutanee all'avambraccio di 12 individui nelle stesse condizioni dei precedenti; in 11 soggetti non si ebbe a notare alcuna reazione caratteristica; in un solo soggetto (una donna blenorragica, non erpetica abituale) si osservò in trentaseiesima ora un notevole arrossamento ben delimitato, edema dei margini dell'incisione, fenomeni suppurativi discreti; in quarantottesima ora si costituì un rilievo a placca papulo-pomfoide ed in terza giornata si osservò la comparsa su di esso di

due vescicoline, subito passate a pustolazione; disseccamento e riparazione completa in ottava giornata.

L'esame microscopico del materiale prelevato dalle vescicopustole e la inoculazione di esso sulla cornea di conigli diedero risultato positivo per la natura erpetica delle lesioni.

E' possibile riprodurre sperimentalmente sulla cute umana l'eruzione erpetica usando materiale di encefalite erpetica animale; si tratta indubbiamente di una evenienza rara (1 volta su 22); il virus cerebrale animale portato sulla cute umana non perde la propria affinità per la cornea del coniglio.

X. — Rapporto fra virus vaccinico, virus erpetico e virus rabico.

1. Tre conigli (C 10, C 11 e C 12) vengono sottoposti ad inoculazione per via intradermica con linfa vaccinica (passata in etere) diluita a 1:10 in fisiologica. Il coniglio C 12 è perfettamente nuovo davanti ai virus vaccinico ed erpetico; il coniglio C 10 ha superato da un mese una vivace cheratite erpetica ed ora le sue condizioni generali sono ottime; il coniglio C 11 ha presentato sulla cute del lato destro del dorso, un mese fa, in seguito ad inoculazione di materiale erpetico, una bella vescicolazione che si è risolta completamente in dieci giorni.

Le inoculazioni intradermiche sono praticate in dieci punti distinti, lungo due linee parallele, sul lato destro del dorso, previa depilazione per strappamento. In ognuno dei punti inoculati si osserva nei due conigli dopo circa 24 ore una zona molto ristretta di arrossamento che si accompagna ben presto con leggera rilevanza centrale, la quale va aumentando lentamente ma progressivamente, fino a raggiungere in quinta-ottava giornata l'aspetto di un piccolo nodetto tondeggiante od ovalare (seme di canapa, piccolo pisello) ricoperto da epidermide integra, tesa, di consistenza solida, pastoso-fibrosa, di colorito bianchiccio o roseo-gialliccio, circondata da alone rosso vivo ben delimitato; nessuna delle papule-nodi così sviluppate viene a suppurazione; tutti, dopo aver raggiunto un volume variabile, tendono a regredire lentamente, e si risolvono in dodici-quindici giorni. Il materiale prelevato da un nodetto in quinta giornata provoca cheratite vaccinica per inoculazione su cornea di coniglio.

Il coniglio C 10, in ottava giornata, si mostra apatico, depresso, rifiuta il cibo, è febbrile; rapidamente lo stato depressivo aumenta, si stabiliscono fenomeni paretici, si sviluppa un quadro nervoso paralitico che conduce al coma in dodicesima giornata; morte.

Il cervello di questo coniglio presenta i caratteri microscopici della encefalite vaccinica e, inoculato sopra cornea di coniglio, provoca cheratite vaccinica.

I conigli C 11 e C 12 sopravvivono invece alla eruzione cutanea; il coniglio C 11, venti giorni dopo la guarigione di questa forma viene inoculato alla cornea con materiale vaccinico (linfa pura); non si osserva nessuna alterazione a carico della cornea.

Quindici giorni dopo viene inoculato alla stessa cornea con materiale rabico (cervello di coniglio morto in settima giornata per inoculazione sottodurale di virus fisso); nessuna lesione apparente della cornea fino alla terza giornata, quando appare leggero opacamento e fugace arrossamento congiuntivale; in quinta giornata si iniziano i classici fenomeni nervosi della rabbia paralitica e l'animale muore in ottava giornata.

Il coniglio C 12, inoculato sotto dura, un mese dopo superata la dermatosi vaccinica, con materiale erpetico cerebrale, soccombe in sesta giornata. Dal punto di vista istologico i noduli vaccinici rappresentano una reazione infiltrativa (polinucleati eosinofili) e distruttiva in seno al derma, con partecipazione indiretta degli epiteli follicolari in istato di ipertrofia dopo depilazione. La raccolta infiltrativa è sempre però ben delimitata, non si manifesta sotto forma di vero ascessolino, ma di invasione interfascicolare attorno al focolaio di inoculazione e va incontro precocemente a rapidi processi di distruzione, spezzettamenti cellulari, cariolisi, con costituzione di svariatissime forme granulari.

Il virus vaccinico (linfa) determina nel coniglio per via intradermica una reazione caratteristica eritemato-papulo-nodulare non suppurativa che si svolge in un tempo variabile dai dieci ai quindici giorni ed alla quale può seguire una sintomatologia nervosa mortale.

I noduli vaccinici dermici forniscono materiale virulento per la cornea di coniglio. La superata dermatosi vaccinica nodulare immunizza contro inoculazioni corneali di virus vaccinico. I conigli che hanno superata una cheratite erpetica od una dermatosi erpetica si comportano di fronte alle iniezioni intradermiche di virus vaccinico come i conigli nuovi.

La superata dermatosi vaccinica nodulare non immunizza contro la inoculazione del virus rabico per via oculare nè contro quella del virus erpetico per via sottodurale.

2. Tre conigli (B 4, B 5, B 6) vengono sottoposti a successive iniezioni per via endovenosa con linfa vaccinica (precedentemente trattata con etere) diluita in soluzione fisiologica 1:20. Il coniglio B 4 non ha subito precedenti innesti nè vaccinici nè erpetici; il coniglio B 5 ha superato da venti giorni una vivace cheratite vaccinica; il coniglio B 6 ha pure superato da quindici giorni una intensa cheratite erpetica. La quantità iniziale di linfa vaccinica iniettata è di 1 cc.

Dopo la prima iniezione non si osserva nessun fenomeno patologico nei tre conigli. Si pratica allora nei tre conigli la depilazione per strappamento sopra una lunga superficie del dorso.

Dopo 24 ore (cinque giorni dopo la prima iniezione) si eseguisce una seconda iniezione endovenosa (ccm. 1); il coniglio *B 5* non reagisce in modo particolare neppure a questa iniezione; il coniglio *B 4* e *B 6* mostrano in seconda giornata un vivace arrossamento a piccole chiazze sulla zona depilata; segue leggero rilievo papuloide, rosso vivo, che in quarta giornata si ricopre in alcuni punti di squamette, mentre in altri punti si osserva la formazione di micropustole isolate o confluenti, tondeggianti, acuminate o piatte, rapidamente apertesi e disseccate.

Il contenuto delle pustole, inoculato alla cornea di altro coniglio, provoca cheratite.

Nel frattempo i due conigli *B 4* e *B 6* sono molto peggiorati nelle condizioni generali, rifiutano il cibo, rimangono sonnolenti; in settima giornata si va iniziando una sintomatologia nervosa che si svolge in maniera identica nei due animali, con prevalenza assoluta del tipo paralitico; contrazioni cloniche agli arti ed al collo e tremori muscolari intermittenti interrompono solo il progressivo stato di depressione che in decima giornata conduce ambedue gli animali al coma ed alla morte.

All'esame istologico dei centri nervosi si riscontrano lesioni meninge e interstiziali cerebrali diffuse un poco dappertutto, del tipo di quelle descritte dal Levaditi come proprie della encefalite vaccinica, cioè infiltrazioni prevalentemente costituite di polinucleati attorno a vasi dilatati, od anche indipendenti da essi, edema pericellulare, aumento dei nuclei liberi; le lesioni parenchimali appaiono scarse e senza note caratteristiche.

Il coniglio *B 5* si è sempre nel frattempo mantenuto in condizioni ottime; viene sottoposto ancora a due iniezioni endovenose della solita sospensione di linfa vaccinica a dosi di 2 ccm. di quattro in quattro giorni; non presenta neppure dopo queste iniezioni alcuna alterazione nè cutanea nè nervosa. Cinque giorni dopo la quarta iniezione gli viene praticata inoculazione di materiale erpetico corneale sulla cornea dell'occhio che non fu soggetto a cheratite vaccinica (leucomatosi); si sviluppa col solito periodo di incubazione una tipica cheratite.

La inoculazione endovenosa di virus vaccinico (linfa) può determinare nel coniglio nuovo una dermatosi papulo-pustolosa specifica quando venga precedentemente praticata depilazione del corrispondente tratto di cute; alla dermatosi può succedere una sintomatologia nervosa paralitica che conduce a morte l'animale.

Un coniglio sottoposto precedentemente a cheratite vaccinica

non contrae la dermatosi vaccinica e non presenta la sindrome nervosa suddetta; un coniglio che superò cheratite erpetica si comporta di fronte alla inoculazione endovenosa di virus vaccinico come un coniglio nuovo; un coniglio che sia stato sottoposto a cheratite vaccinica ed a iniezione endovenosa di virus vaccinico si comporta di fronte alla inoculazione corneale di virus erpetico come un coniglio nuovo.

3. Il coniglio nuovo A 18 viene inoculato per via sottodurale con materiale vaccinico (linfa vaccinica passata in etere e diluita con soluzione fisiologica sterile 1:25); nessuna reazione immediata; in quarta giornata cominciano a comparire fenomeni nervosi di tipo paretico agli arti posteriori, che poi sembrano svanire; ma riprendono poi, mentre si accentua lo stato cattivo generale dell'animale, molto depresso, febbrile; susseguono fatti paralitici sempre più gravi e infine lo stato comatoso e morte in ottava giornata.

L'esame istologico del sistema nervoso dimostra la presenza di meningoencefalite diffusa a polinucleati, piccole emorragie sparse, dilatazione degli spazi linfatici, edemi e degenerazioni cellulari sparsi un poco dappertutto, ma dovunque poco accentuati.

Il materiale cerebrale inoculato nella cornea di due conigli, determina in uno di questi una tipica cheratite vaccinica.

Il materiale cerebrale stesso, spappolato e diluito in soluzione fisiologica 1:25 viene inoculato sottodura ad un coniglio nuovo A 19 e ad un coniglio A 20 che ha superato da due mesi una cheratite erpetica. Ambedue i conigli presentano un comportamento identico a quello presentato dal coniglio A 18; sindrome paralitica e morte in 9^a-10^a giornata; l'esame del sintomo nervoso dimostra un quadro analogo a quello accennato, ma in complesso senza caratteristiche tali da rendere queste lesioni veramente tipiche; il fenomeno più notevole sembra quello della diffusione del processo senza predilezione per determinate zone e la prevalenza delle cellule polinucleate (in gran parte eosinofile) sugli altri elementi di infiltrazione.

Il materiale cerebrale del coniglio A 19 viene usato per inoculazione sottodurale in un altro coniglio A 21 e per iniezione parenchimale nel testicolo del coniglio A 22.

Il coniglio A 21 presenta in terza, quarta giornata dei fenomeni di depressione, malavoglia, rifiuta il cibo, ha il pelo arruffato, sembra trascini a fatica il treno posteriore; questi fenomeni però si attenuano e scompaiono in seguito, tanto che venticinque giorni dopo esso si ritrova in ottime condizioni generali.

Si praticano allora su di lui due inoculazioni corneali, una su O. D. con materiale vaccinico (linfa pura), l'altra su O. S. con materiale di cheratite erpetica; l'O. D. presenta in seconda giornata un leggerissimo opacamento ed un moderatissimo stato infiamma-

torio della congiuntiva, che scompare in quinta giornata; l'O. S. presenta, dopo 36 ore, una tipica cheratocongiuntivite erpetica che acquistò un vivacissimo sviluppo. L'animale sopravvive ancora dopo quattro mesi.

Nel coniglio A 22 si vede svolgersi dalla seconda alla decima giornata un processo infiltrativo non suppurativo a carico del testicolo, che aumenta di volume e consistenza in maniera diffusa, ma più partilolarmente in forma nodulare, in sede della inoculazione; asportato in decima giornata viene in parte spappolato, e finemente ridotto in poltiglia con fisiologica (1:10); indi inoculato sulla cornea del coniglio A 23 e sottodura del coniglio A 24.

Nel coniglio A 23 si ottiene dopo 48 ore la riproduzione della cheratite tipica vaccinica; il coniglio A 24, dopo due giorni di completo benessere, mostra uno stato passeggero di eccitazione, contratture cloniche degli arti e dei muscoli del collo, poi cade in stato depressivo, compare paresi posteriore, poi si sviluppa il quadro paralitico osservato nei conigli A 18 e A 19 e si ha la morte in quinta giornata.

Col materiale cerebrale di questo animale si praticano inoculazioni per scarificazioni molto numerose sopra la cute depilata del dorso dei due conigli nuovi; in uno di questi non si osserva alcuna reazione caratteristica; nell'altro si presenta, in seconda-quarta giornata, una eruzione a focolai sparsi, eritemato-desquamativi ed eritemato-papulosi; solo in sesta giornata compare qualche minuta forma pustolosa, presto coperta di crosticine.

L'inoculazione sottodurale di materiale vaccinico (linfa) può provocare nel coniglio una sindrome nervosa paralitica con esito mortale; il materiale cerebrale vaccinico può provocare una tipica cheratite, una eruzione cutanea abortiva e scarsa e, inoculato sotto dura, può riprodurre il quadro encefalitico paralizzante, ma il passaggio in serie per via cerebrale si arresta dopo il terzo passaggio, mostrandosi il materiale cerebrale più attenuato dopo il secondo; la superata infezione cerebrale, di modico grado, determina però immunità parziale contro la inoculazione corneale di linfa vaccinica, mentre non conferisce alcuna immunità contro il virus erpetico inoculato per la stessa via.

Il vaccino cerebrale può provocare un processo orchitico nel testicolo del coniglio, ed il materiale prelevato da questi focolai riproduce il processo vaccinale corneale e, per via sottodurale, quello encefalitico.

La superata cheratite erpetica non conferisce immunità contro la inoculazione sottodurale di materiale vaccinico-cerebrale.

4. Il coniglio B 31 è inoculato per via corneale O. D. con materiale erpetico molto virulento; violenta cheratocongiuntivite; in

settima giornata compaiono fenomeni nervosi caratteristici; si inocula per via corneale O. S. con linfa vaccinica pura; dopo 36 ore si ha sviluppo di bella congiuntivite e cheratite vaccinali; il coniglio muore in decima giornata; imponenti lesioni cerebrali di meningo-encefalite erpetica acuta.

La presenza di cheratite erpetica in atto e la encefalite erpetica al suo inizio non conferiscono immunità corneale eterolaterale di fronte al virus vaccinico.

5. I due conigli A 1, A 2 vengono inoculati sulla cute del dorso, il primo per scarificazioni multiple superficiali, il secondo per multiple iniezioni intradermiche, previa depilazione, con materiale cerebrale di coniglio morto in sesta giornata per inoculazione sottodurale di virus rabico fisso.

Il coniglio A 1 mostra nelle prime cinque giornate delle alterazioni cutanee poco sviluppate, di tipo eritematoso diffuso, con discreta infiltrazione lungo le linee di incisione, ed essudazione sieropurulenta che si rapprende in crosticine aderenti; in quinta giornata cominciano a comparire i primi sintomi a carico del sistema nervoso ed il quadro classico paralitico rabico si svolge, con morte in nona giornata.

In sesta giornata viene inoculato alla cornea O. D. con materiale vaccinico (linfa pura); si sviluppa una tipica cheratite vaccinale.

In terza e quinta giornata si preleva dalla cute del dorso dello stesso coniglio, nella zona di inoculazione, un frammento di cute, dove si mostra più arrossata e infiltrata e, dopo spappolamento, si inocula diluito in fisiologica, nella cornea O. D. di due conigli (A 7 e A 8); dopo un leggerissimo e fugace opacamento, le cornee si rischiarano (quarta giornata); in sesta giornata il coniglio A 7 presenta i primi fenomeni nervosi di tipo rabico e soccombe, dopo un quadro paralitico classico, in nona e decima giornata.

In settima giornata viene inoculato sopra la stessa cornea O. D. con materiale di cheratite erpetica; si sviluppa un processo cherato-congiuntivale colle caratteristiche erpetiche.

Il coniglio A 8 non presenta nessun fenomeno generale e sopravvive in buone condizioni; inoculato dopo venti giorni per via sottodurale con materiale rabico cerebrale, soccombe in sesta giornata.

Il coniglio A 2 reagisce alla inoculazione intradermica di materiale rabico con limitati processi eritemato-pomfoidi e micropapulosi che, iniziati dopo 48 ore, raggiungono il massimo in quarta giornata, poi regrediscono; in sesta giornata si iniziano i soliti fenomeni nervosi rabici e si svolgono col quadro classico conducendo a morte l'animale in decima giornata.

In settima giornata si inocula l'occhio destro per scarificazione

con materiale erpetico corneale; si ottiene in tempo normale una cheratite erpetica tipica. Il materiale cerebrale del coniglio A 2 viene inoculato sulla stessa cornea di un coniglio (A 9) che ha superata da quaranta giorni una cheratite erpetica classica; mediocri reazioni corneale e congiuntivale, con opacamento diffuso, regredito in quinta giornata; solito quadro nervoso e morte dell'animale in ottava giornata.

Dagli esami istologici praticati sulla cute dei conigli inoculati con virus rabico per via di scarificazioni o intradermica, non si possono trarre conclusioni definitive sopra reazioni specifiche o meno presentate dalla cute di fronte al virus in parola; indubbiamente si osservano nel derma alto e nell'epidermide, delle notevoli alterazioni infiltrative, degenerative e riparative; vivaci iperplasie epiteliali; iperemia, piccole emorragie, infiltrazioni ed accumuli superficiali e profondi all'ipoderma, costituiti da polinucleati dapprima poi da linfociti e da cellule plasmatiche, reazioni fibroblastiche; mancano però formazioni ben delimitate o caratteristiche per sede, natura degli elementi, tipo delle alterazioni cellulari.

Un confronto con le modificazioni che si verificano nella cute della stessa regione nel coniglio in seguito a semplice scarificazione e depilazione, farebbe rilevare qualche notevole differenza di grado, piuttosto che di tipo, in confronto delle reazioni che si rilevano sugli stessi terreni dopo inoculazione di virus rabico, ma non vi è in complesso un solo carattere che si possa dire esclusivo di queste ultime. Il problema merita ulteriore studio, come quello analogo delle alterazioni che si osservano nella cornea attraversata dal virus rabico, dove pure non mancano lesioni epiteliali e parenchimatose, maggiori in generale di quelle che si osservano dopo semplici scarificazioni corneali, ma senza nessun dato veramente caratteristico.

Il virus rabico cerebrale fisso trasportato sulla cornea del coniglio o sulla cute dello stesso animale per via di scarificazione o intradermica, passa al sistema nervoso determinandovi mieloencefalite specifica; non si può affermare per ora che nel suo passaggio attraverso alla cute ed alla cornea animale, essa provochi delle alterazioni in qualche modo specifiche. La cute sulla quale si è inoculato il virus rabico, conserva in sè il virus stesso allo stato di attività almeno per tre giorni. Le cornee di animali inoculati con virus rabico per via cutanea si comportano, all'inizio della comparsa dei fenomeni nervosi degli animali, non diversamente dalle cornee di animali nuovi di fronte al virus vaccinale, ed al virus erpetico. La cornea che ha servito al passaggio del virus rabico non presenta immunità contro il virus erpetico, quando già l'animale è in preda al processo nervoso rabico. La superata infezione erpetica corneale non immunizza la cornea stessa contro il passaggio del virus rabico.

6. Due conigli C 3 e C 4, vengono inoculati per scarificazione corneale; il primo con una emulsione costituita da materiale cerebrale rabico fisso mescolato in parti uguali con sospensione in fisiologica di materiale erpetico corneale di terza giornata; il secondo con una emulsione analoga, nella quale al materiale erpetico corneale è sostituito del materiale vaccinico corneale.

Le due emulsioni, vivamente e prolungatamente agitate, vengono tenute in ghiacciaia per 12 ore prima della inoculazione.

Nel coniglio C 3 si osserva lo sviluppo di una tipica cheratite erpetica (esame istologico e controllo biologico); nel coniglio C 4 si sviluppa, coi soliti caratteri, una cheratite vaccinica (controlli microscopico e biologico).

Ambedue gli animali in quarta giornata presentarono poi i primi disturbi nervosi e soccombettero in settima giornata, dopo un quadro nervoso nettamente paralitico, coi caratteri della mieloencefalite rabica.

Il materiale cerebrale dei due conigli, inoculato per via cutanea e corneale in altri conigli, determinò lo sviluppo di una tipica rabbia paralitica.

La permanenza per 12 ore a 0°, di emulsioni di materiale rabico ed erpetico e di materiale vaccinico ed erpetico provoca per inoculazione sulla cornea del coniglio delle tipiche reazioni vacciniche ed erpetiche e le cheratiti così provocate non ostacolano il passaggio del virus rabico dalla cornea stessa al sistema nervoso.



